

УДК 615.322: 547.972 + 543.544



## МЕТОДИКА КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СУММЫ ФЛАВОНОИДОВ В ПОЧКАХ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО *QUERCUS ROBUR* L.

Н.А. Рябов, В.М. Рыжов, В.А. Куркин

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования  
«Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения  
Российской Федерации  
443099, Россия, г. Самара, ул. Чапаевская, 89

E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

Получено 24.05.2021

Принята к печати 05.10.2021

В настоящее время актуальной задачей современной фармации является изучение химического состава и фармакологических свойств растительных объектов. В рамках данного направления представляется интересным изучение почек дуба черешчатого *Quercus robur* L. Одной из перспективных групп биологически активных соединений почек дуба являются флавоноиды. Данная группа веществ обладает широким спектром фармакологической активности, что является значимым при создании новых лекарственных препаратов на основе лекарственного растительного сырья.

**Цель.** Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в почках дуба черешчатого *Quercus robur* L.

**Материалы и методы.** Материалом исследования являлись водно-спиртовые извлечения почек дуба черешчатого *Quercus robur* L. на спирте этиловом 70%, которые анализировали методом дифференциальной УФ-спектрофотометрии на спектрофотометре «СФ 2000» (Россия).

**Результаты.** Разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в почках дуба черешчатого методом дифференциальной УФ-спектрофотометрии с использованием стандартного образца цинарозида при аналитической длине волны 400 нм. Установлены оптимальные параметры экстрагирования суммы флавоноидов из почек дуба черешчатого: оптимальный экстрагент – 70% спирт этиловый; соотношение «сырьё-экстрагент» – 1:50; время экстракции – 120 мин, степень измельчения – 2 мм.

Определено содержание суммы флавоноидов для почек дуба черешчатого, которое варьирует от  $0,27\% \pm 0,01$  до  $0,44\% \pm 0,02$ . Данные результаты позволяют рекомендовать в качестве нижнего предела содержание суммы флавоноидов для данного вида сырья не менее 0,25%.

**Заключение.** Полученные в ходе эксперимента данные позволяют сделать вывод о перспективности дальнейшего изучения почек дуба черешчатого, а также способствуют внедрению лекарственного растительного сырья «Дуба черешчатого почки» в Государственную Фармакопею Российской Федерации.

**Ключевые слова:** Дуб черешчатый; *Quercus robur* L.; почки; флавоноиды; цинарозид; дифференциальная спектрофотометрия; стандартизация

**Список сокращений:** БАВ – биологически активные соединения; ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография; ГФ РФ XIV изд. – Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV издания; ОФС – общая фармакопейная статья; СО – стандартный образец; УФ-спектроскопия – ультрафиолетовая спектроскопия; ФС – фармакопейная статья; SD – стандартное отклонение; RSD – относительное стандартное отклонение.

## METHODS FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF TOTAL FLAVONOIDS IN *QUERCUS ROBUR* L. BUDS

N.A. Ryabov, V.M. Ryzhov, V.A. Kurkin

Samara State Medical University  
89, Chapayevskaya St., Samara, Russia, 443099

E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

Received 24 May 2021

Accepted 05 Oct 2021

**Для цитирования:** Н.А. Рябов, В.М. Рыжов, В.А. Куркин. Методика количественного определения суммы флавоноидов в почках дуба черешчатого *Quercus robur* L. *Фармация и фармакология*. 2021;9(5):356-366. DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-5-356-366

© Н.А. Рябов, В.М. Рыжов, В.А. Куркин, 2021

**For citation:** N.A. Ryabov, V.M. Ryzhov, V.A. Kurkin. Methods for quantitative determination of total flavonoids in *Quercus robur* L. buds. *Pharmacy & Pharmacology*. 2021;9(5):356-366. DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-5-356-366

Currently, the actual task of modern pharmacy is to study the chemical composition and pharmacological properties of plant objects. Within the framework of this concept, it seems interesting to study *Quercus robur* L. buds. One of the promising groups of biologically active compounds of *Quercus robur* L. buds are flavonoids. This group of substances has a wide range of a pharmacological activity, which is significant in the creation of new medicines based on medicinal plant raw materials.

**The aim** of the article was to work out methods for quantitative determination of total flavonoids in *Quercus robur* L. buds.

**Materials and methods.** The research materials were aqueous-alcoholic extracts from *Quercus robur* L. buds with 70% ethyl alcohol which were analyzed by differential UV spectrophotometry on spectrophotometer "SF 2000" (Russia).

**Results.** The methods for quantitative determination of total flavonoids in *Quercus robur* L. buds by differential UV spectrophotometry, has been developed using a standard sample of cynaroside at the analytical wavelength of 400 nm. The optimum parameters for the extraction of total flavonoids from *Quercus robur* L. buds have been determined. They are: the optimum extractant is 70% ethyl alcohol; the "raw material-extractant" ratio is 1:50; the extraction time is 120 min, the degree of atomization is 2 mm.

The content of total flavonoids for *Quercus robur* L. buds has been determined; it varies from  $0.27\% \pm 0.01$  to  $0.44\% \pm 0.02$ . These results make possible to recommend the content of total flavonoids for this type of raw materials not less than 0.25% as a lower limit.

**Conclusion.** The data obtained in the course of the experiment, makes it possible to conclude that a further study of *Quercus robur* L. buds is promising, and it also contributes to the implementation of medicinal plant raw materials "*Quercus robur* L. buds" in the State Pharmacopoeia (Russia).

**Keywords:** *Quercus robur* L.; buds; flavonoids; cynaroside; differential spectrophotometry; standardization

**Abbreviations:** BASs – biologically active substances; HPLC – High Performance Liquid Chromatography; SP (Russia), XIV<sup>th</sup> ed. – State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XIV<sup>th</sup> edition; GM – general monograph; SS – standard sample; UV spectroscopy –ultraviolet spectroscopy; PM –pharmacopoeial monograph; SD – Standard Deviation; RSD – Relative Standard Deviation.

## ВВЕДЕНИЕ

Род *Quercus* L. (*Fagaceae*) представлен более 500 видами, большинство которых являются важнейшими образователями широколиственных и хвойно-широколиственных лесов в европейской части России и Западной Европы<sup>1,2</sup>. В России в диком виде произрастают 19 видов, интродуцировано около 60 видов [1].

Дуб черешчатый (*Quercus robur* L.) – крупное дерево с широкопирамидальной, шатровидной кроной, достигающее более 50 метров в высоту<sup>3</sup>. Достаточно велико хозяйственное значение дуба черешчатого, благодаря чему он применяется во многих областях промышленности: в мебельной и кожевенной промышленности, в лесоразведении и др. Кора дуба черешчатого применяется в мировой медицинской практике, входит в состав таких фармакопей как Российская, Британская, Европейской и др. [6, 7]. Также кора дуба используется при производстве различных комплексных лекарственных препаратов, таких как «Стоматофит», «Тонзилгон Н», «Дентос» и др.<sup>4,5,6,7</sup>.

Дуб черешчатый достаточно широко применяется в народной медицине в качестве средства при

профилактике и лечении заболеваний желудочно-кишечного тракта, гинекологических заболеваний, а также при оториноларингологических и дерматологических заболеваниях [1].

В растительных объектах, в частности и в коре дуба, присутствует комплекс биологически активных веществ (БАВ), в состав которых входят флавоноиды. Данная группа веществ является одной из самых распространенных групп всех фенольных соединений растений, в химической структуре которых лежит  $C_6-C_3-C_6$  углеродный скелет [2–6]. Это вещества фенольной природы, обладающие ценными фармакологическими свойствами, такими как противовоспалительное, диуретическое, желчегонное, спазмолитическое, противовирусное, антиоксидантное, антимикробное<sup>8</sup> и др. [2–6]. В коре дуба также содержатся дубильные вещества (галловая, эллаговая кислоты), тритерпены (фриделин, фриделинол, 3-фриделанол)<sup>9</sup> и ряд других ценных веществ [6–12].

Помимо изучения коры дуба черешчатого, интерес представляют почки данного растения в качестве источника флавоноидов. Важным направлением изучения почек дуба черешчатого и внедрения их в фармацевтическую и медицинскую практику является решение вопроса стандартизации сырья, а также разработка методов количественного анализа содержащихся в сырье БАВ. Почки как вид лекарственного растительного сырья входит в ГФ РФ XIV изд. в виде общей фармакопейной статьи (ОФС). Следует отметить, что к изучению почек некоторых растений привлекалось внимание отечественных и зарубежных

<sup>1</sup> Государственная Фармакопея Российской Федерации. Министерство здравоохранения РФ. XIV изд. Т. 1–4. М., 2018. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>

<sup>2</sup> Assessment report on *Quercus robur* L., *Quercus petraea* (Matt.) Liebl., *Quercus pubescens* Willd., cortex EMA/HMPC/3206/2009.

<sup>3</sup> Там же.

<sup>4</sup> Государственная Фармакопея Российской Федерации. Министерство здравоохранения РФ. XIV изд. Т. 1–4. М., 2018.

<sup>5</sup> Assessment report on *Quercus robur* L., *Quercus petraea* (Matt.) Liebl., *Quercus pubescens* Willd., cortex EMA/HMPC/3206/2009.

<sup>6</sup> European Pharmacopoeia – 8th. "01/2008:1887 corrected 6.0". 2013. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://pharmeuropa.edqm.eu>

<sup>7</sup> British Pharmacopoeia 2009. British Pharmacopoeia Herbal Drugs and Herbal Drug Preparations // Oak Bark. – 2009. – Vol. III. – 7203 p.

<sup>8</sup> Assessment report on *Quercus robur* L., *Quercus petraea* (Matt.) Liebl., *Quercus pubescens* Willd., cortex EMA/HMPC/3206/2009.

<sup>9</sup> Государственная Фармакопея Российской Федерации. Министерство Здравоохранения РФ. XIV изд. Т. 1–4. М., 2018.

ученых [13–16]. Для количественного определения соединений группы флавоноидов на сегодняшний день используется достаточно широкий перечень аналитических методов. Наиболее часто применяется метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и метод УФ-спектроскопии [14–17]. Метод спектроскопии в УФ-свете позволяют провести количественное определение суммы биологически активных веществ в растительных объектах, тогда как с помощью метода ВЭЖХ, как правило, определяют отдельные компоненты изучаемых объектов [14, 17].

Так, проводилось исследование по изучению почек каштана конского обыкновенного (*Aesculus hippocastanum* L.), в результате которого была разработана методика количественного определения рамноцитрина в почках каштана методом ВЭЖХ [14, 15]. Теми же учеными проводилось изучение химического состава почек каштана конского обыкновенного (*Aesculus hippocastanum* L.) методом дифференциальной спектрофотометрии, в результате которого удалось установить доминирующее вещество в сырье [15]. Также проводилось исследование по изучению новых антимикробных агентов растительного происхождения для подавления образования микробных биопленок с целью выявления и количественной оценки фенольных соединений, экстрагированных из почек *Populus nigra* и *Populus alba*, а также для оценки их антимикробной и антибиотической активности методом ВЭЖХ [13].

Помимо изучения почек *Populus nigra* и *Populus alba* проводилось изучение почек тополя бальзамического (*Populus balsamifera* L.) в целях определения оптимального способа извлечения баротермическим способом, этанолом и сверхкритическим диоксидом углерода, выделения и очистки флавоноидных компонентов почек тополя бальзамического [13].

Метод дифференциальной УФ-спектроскопии достаточно широко применяется для качественной и количественной оценки БАВ в растительном сырье [1, 15, 17–21]. Сущность дифференциальной спектрофотометрии заключается в образовании комплекса между катионом алюминия, карбонилем и гидроксильными группами флавоноида с образованием стабильного комплекса, вследствие чего происходит так называемый батохромный сдвиг [1, 19]. Метод дифференциальной спектрофотометрии использовался при разработке методик количественного определения флавоноидов в сырье *Leontodon autumnalis* L. после образования окрашенного комплекса с раствором хлорида алюминия [20]. Также данный метод применялся в процессе разработки методики количественного определения суммы флавоноидов в листьях ореха грецкого (*Juglans regia* L.) с использованием стандартного образца рутина при аналитической длине волны 416 нм в целях решения вопросов стандартизации нового вида лекарственного растительного сырья [22]. Дифференциальная

спектрофотометрия использовалась при разработке методики количественного определения суммы флавоноидов в цветках бархатцев отклоненных с использованием стандартного образца патулитрина (7-О-β-D-глюкопиранозид 3,5,7,3',4'-пентагидрокси-6-метоксифлавона) при аналитической длине волны 428 нм [22]. В результате анализа вышеуказанных исследований можно сделать вывод о востребованности в современной фармацевтической практике метода дифференциальной спектрофотометрии при проведении стандартизации лекарственного растительного сырья [22].

Метод дифференциальной спектрофотометрии в количественном анализе флавоноидов обладает существенными преимуществами, такими как простота, доступность, точность, малое количество времени, затрачиваемое на анализ. Исходя из того, что метод дифференциальной спектрофотометрии позволяет определять содержание флавоноидов, их сумму или индивидуальное вещество в анализируемом сырье, логичным является использование данного метода при разработке нормативной документации на сырье – почки дуба черешчатого [19].

В ходе проведения обзора литературы касательно изучения почек дуба черешчатого обнаружены данные по исследованию морфолого-анатомических признаков почек дуба, которые являются важным звеном при стандартизации нового лекарственного растительного сырья [23]. Ранее нами проводилось исследование спиртовых экстрактов на основе почек дуба черешчатого, в ходе которого была выявлена антимикробная активность против ряда патогенных штаммов микроорганизмов *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Candida albicans* [24]. Дальнейшим направлением изучения почек дуба черешчатого является разработка методик количественного определения содержащихся в сырье БАВ.

**ЦЕЛЬ.** Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в почках дуба черешчатого *Quercus robur* L.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлись три образца почек дуба черешчатого *Quercus robur* L., заготовленные в зимне-весенний период с конца февраля по начало апреля 2021 г. Образец № 1 был заготовлен в Самарской области (Похвистневский район, с. Первомайск); образец № 2 – в Ботаническом саду Самарского университета (г. Самара); образец № 3 – в Природном лесопарке «Дубки» (г. Самара, Россия). Видовая специфичность, анализируемых объектов подтверждалась при помощи определителей средней полосы России [1].

Морфологически почки дуба черешчатого яйцевидные, многочешуйчатые, плотные, темно-коричневого цвета, завершающиеся в центре на окончании

побега одной или тремя верхушечными (терминальными) почками [1, 23]. Для анализа отбирались как вегетативные, так и генеративные почки у трех представителей данного вида. После сбора почки разваливали тонким слоем и сушили без нагрева в хорошо проветриваемом помещении без попадания прямых солнечных лучей. Окончание сушки определяли по ломкости почек. Для разработки методики использовался метод дифференциальной спектрофотометрии, который проводился в соответствии с Фармакопейной статьей Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV издания (ГФ РФ XIV изд.)<sup>10</sup>.

В качестве стандартного образца (СО) использовался раствор цинарозида на спирте этиловом 70% (рис. 1). СО цинарозида соответствуют требованиям фармакопейной статьи (ФС) и был предоставлен для исследования Центром коллективного пользования Института фармации СамГМУ. При анализе водно-спиртовых извлечений почек дуба черешчатого и растворов СО цинарозида использовался прибор «СФ 2000» (Россия). Водно-спиртовые извлечения готовились с использованием спирта этилового 96% (марка ХЧ ООО «Гиппократ», Россия, г. Самара, серия: 360917). Концентрации спирта – 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% и 96% были получены путем разведения спирта этилового 96% по таблице № 5 приложения к ГФ РФ XIV издания<sup>11</sup>.

#### Методика количественного определения суммы флавоноидов в почках дуба черешчатого.

#### Получение водно-спиртового извлечения из почек дуба черешчатого

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм. Около 1 г измельченного сырья (точная навеска) помещают в коническую термостойкую колбу (Колба Эрленмейера) со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл спирта этилового 70%. Колбу закрывают пробкой и взвешивают на лабораторных весах марки «Сарто ГОСМ» (ЛВ 210-А (RuLV-210-А) №23425181; 2008 г; Россия) с точностью до  $\pm 0,001$ . Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 120 мин. Затем колбу охлаждают в течение 30 мин, закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы колбы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр (красная полоса)<sup>12</sup>.

#### Приготовление испытуемого раствора

5 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 1 мл 3% спиртового раствора алюминия хлорида и доводят

объем раствора до метки спиртом этиловым 96% (испытываемый раствор А), перемешивают и оставляют на некоторое время (40 минут) для образования комплекса флавоноидов с алюминием. Затем измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 400 нм. В качестве раствора сравнения используют раствор, полученный следующим образом: 5 мл извлечения (1:50) помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем раствора спиртом этиловым 96% до метки.

#### Приготовление раствора стандартного образца цинарозида

Около 0,01 г (точная навеска) цинарозида помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 30 мл спирта этилового 70% при нагревании на водяной бане. Использование спирта этилового 70% позволяет обеспечить наилучшее растворение СО цинарозида. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры, его объем доводят спиртом этиловым 70% до метки (раствор А цинарозида). 2 мл раствора А цинарозида помещают в мерную колбу на 25 мл, прибавляют 1 мл 3% спиртового раствора алюминия хлорида и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96% (испытываемый раствор Б цинарозида). Измеряют оптическую плотность раствора Б на спектрофотометре при длине волны 400 нм.

#### Приготовление раствора сравнения

2 мл раствора А цинарозида помещают в мерную колбу на 25 мл и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96% (раствор сравнения Б цинарозида). Поскольку при доведении до метки отобранной аликвоты водно-спиртового извлечения почек дуба использовался спирт этиловый 96%, то при доведении до метки раствора А цинарозида также использовался спирт данной концентрации.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на цинарозид и абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D * m_0 * 50 * 25 * 2 * 100 * 100}{D_0 * m * 5 * 25 * 25 * (100 - W)},$$

где:  $D$  – оптическая плотность испытуемого раствора;  $D_0$  – оптическая плотность раствора СО цинарозида;  $m$  – масса сырья, г;  $m_0$  – масса СО цинарозида, г;  $W$  – потеря в массе при высушивании в процентах.

В случае отсутствия стандартного образца цинарозида целесообразно использовать теоретическое значение удельного показателя поглощения – 334.

$$X = \frac{D * 50 * 25 * 100}{m * 334 * 5 * (100 - W)},$$

где:  $D$  – оптическая плотность испытуемого раствора;  $m$  – масса сырья, г; 334 – удельный показатель погло-

<sup>10</sup> Государственная Фармакопея Российской Федерации. Министерство Здравоохранения РФ. XIV изд. Т. 1–4. М., 2018.

<sup>11</sup> Там же.

<sup>12</sup> Там же.



щения ( $E_{1\text{см}}^{1\%}$ ) СО цинарозида при 400 нм;  $W$  – потеря в массе при высушивании в процентах.

Значение удельного показателя поглощения ( $E_{1\text{см}}^{1\%}$ ) для СО цинарозида при 400 нм рассчитывалось экспериментально по формуле:

$$E_{1\text{см}}^{1\%} = \frac{D * V_1 * V_2}{100 * q * m_0},$$

где:  $D$  – оптическая плотность испытуемого раствора;  $m_0$  – масса СО цинарозида, г;  $V_1$  – Объем колбы 1, мл;  $V_2$  – Объем колбы 2, мл;  $q$  – объем аликвоты, мл;

### Валидация аналитической методики

Валидационная оценка разработанной методики проводилась по показателям: специфичность, линейность, прецизионность (уровень повторяемости), внутрилабораторная прецизионность, правильность в соответствии с ГФ РФ XIV издания<sup>13</sup>. При выполнении расчетов использовалось программное обеспечение Microsoft Excel 2013.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

В процессе выполнения эксперимента была разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в почках дуба черешчатого, в результате чего определены оптимальные условия экстрагирования и обоснован выбор оптимального экстрагента.

Так как на данный момент компонентный состав почек не изучен, нами при разработке методики определялась сумма веществ (флавоноидов) в исследуемых извлечениях.

Разработка методики проводилась поэтапно. На первом этапе были изучены спектры поглощения водно-спиртовых извлечений на основе почек дуба черешчатого. В ходе анализа полученных извлечений методом дифференциальной спектрофотометрии были определены максимумы поглощения спектральных кривых, характерных для веществ флавоноидной природы (рис. 2). Наблюдался bathochromный сдвиг электронного спектра поглощения водно-спиртового извлечения почек дуба черешчатого с максимумом поглощения, аналогичным раствору СО цинарозида (400 нм) (рис. 3). Поэтому при проведении количественного определения суммы флавоноидов в водно-спиртовых извлечениях на основе почек дуба черешчатого в качестве стандартного образца нами был выбран цинарозид (рис. 4 и 5). Наблюдаемая схожая картина спектральных кривых поглощения при анализе исследуемых образцов сырья и раствора стандартного образца цинарозида позволяет утверждать, что в водно-спиртовых извлечениях почек дуба черешчатого присутствуют флавоноиды, а метод дифференциальной спектро-

фотометрии позволяет провести их количественное определение.

На втором этапе разработки методики было установлено, что наиболее полное извлечение флавоноидов из почек дуба черешчатого достигается при экстракции 70% спиртом. Следующим этапом было проведение эксперимента по определению оптимального соотношения «сырье-экстрагент» (1:50). Затем были определены временные параметры экстракции, обнаружено, что в течение 120 минут происходит максимальное извлечение флавоноидов из сырья. Заключительным этапом являлось определение степени измельчения сырья (2 мм), способствующее полному извлечению флавоноидов экстрагентом (табл. 1).

На основании полученных результатов определены условия методики количественного определения: экстракция флавоноидов из почек дуба черешчатого, измельченных до 2 мм, спиртом этиловым 70% в соотношении «сырье-экстрагент» – 1:50 в течение 120 мин на кипящей водяной бане. Количественное определение флавоноидов в пересчете на цинарозид проводят методом дифференциальной спектрофотометрии при аналитической длине волны 400 нм с использованием стандартного образца или значения удельного показателя поглощения СО цинарозида (334).

Критерием оценки аналитической методики является валидационная оценка. Валидацию методики проводили в соответствии с ГФ РФ XIV издания<sup>14</sup>.

Специфичность методики определялась по соответствию максимумов поглощения комплекса флавоноидов почек дуба черешчатого и раствора СО цинарозида с алюминием хлоридом и дифференциального пика СО цинарозида.

Линейность методики определяли для серии из десяти растворов цинарозида (с концентрациями в диапазоне от 0,00225 до 0,0225 мг/мл: 0,00225, 0,00325; 0,00425; 0,00525; 0,00625, 0,00725; 0,00825; 0,00925; 0,0125; 0,0225) с алюминием хлоридом при длине волны 400 нм. На основании полученных данных строили график зависимости значений оптической плотности растворов цинарозида с алюминия хлоридом от концентрации цинарозида и затем рассчитывали уравнение линейной регрессии (рис. 6; табл. 2).

При изучении линейной зависимости вида  $y = bx + a$ , коэффициент корреляции составил 0,99957, следовательно, данную методику можно использовать для анализа суммы флавоноидов в почках дуба черешчатого в пересчете на цинарозид в указанном диапазоне концентраций (рис. 6; табл. 2).

Прецизионность методики (уровень повторяемости) оценивали путем анализа исследуемого образца лекарственного растительного сырья в 10-кратной повторности (табл. 3).

<sup>13</sup> Государственная Фармакопея Российской Федерации. Министерство Здравоохранения РФ. XIV изд. Т. 1–4. М., 2018.

<sup>14</sup> Государственная Фармакопея Российской Федерации. Министерство Здравоохранения РФ. XIV изд. Т. 1–4. М., 2018.

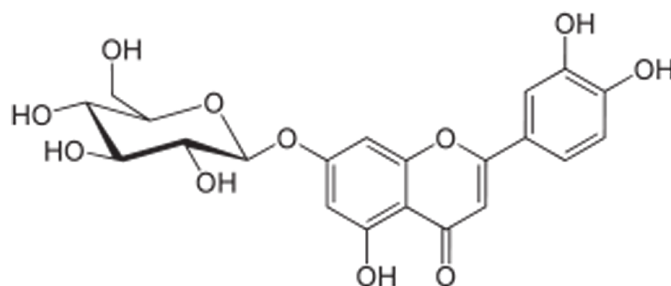


Рисунок 1 – Формула цинарозида

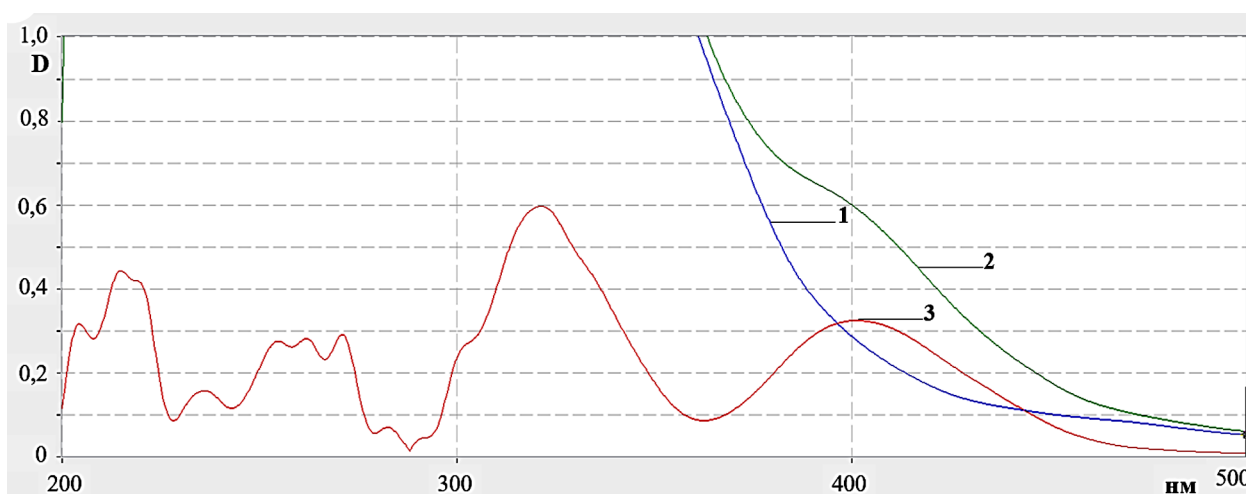


Рисунок 2 – Электронные спектры растворов водно-спиртового извлечения из почек дуба черешчатого

Примечание: 1 – раствор извлечения (прямая спектрофотометрия); 2 – раствор извлечения с добавлением алюминия хлорида;  
3 – дифференциальная кривая

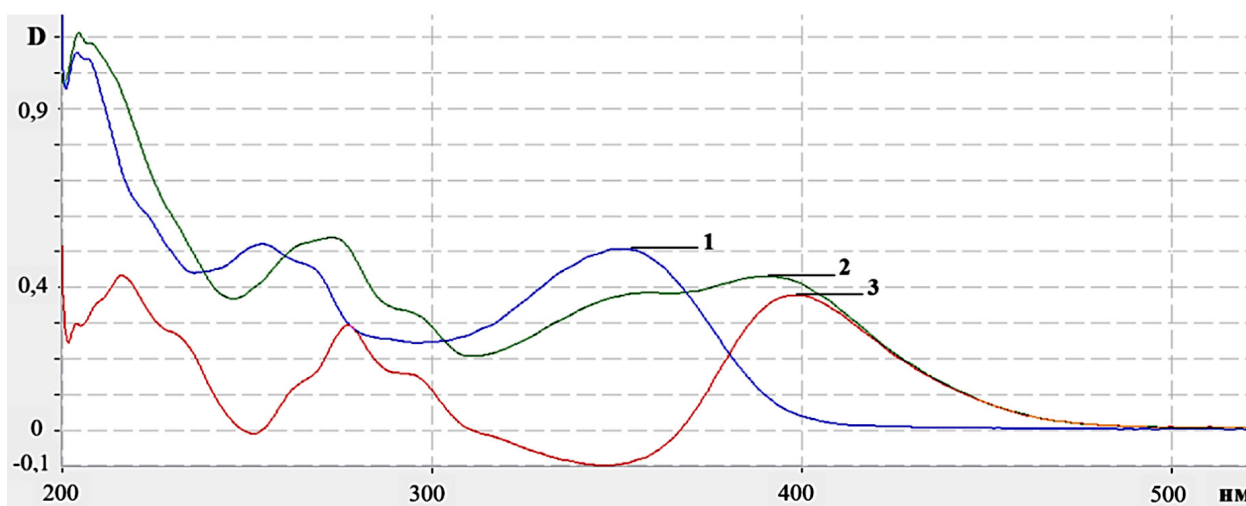


Рисунок 3 – Электронные спектры водно-спиртовых растворов стандартного образца цинарозида

Примечание: 1 – исходный раствор цинарозида (прямая спектрофотометрия); 2 – раствор цинарозида с добавлением алюминия хлорида; 3 – дифференциальная кривая цинарозида (батохромный сдвиг коротковолновой и длинноволновой полосы)

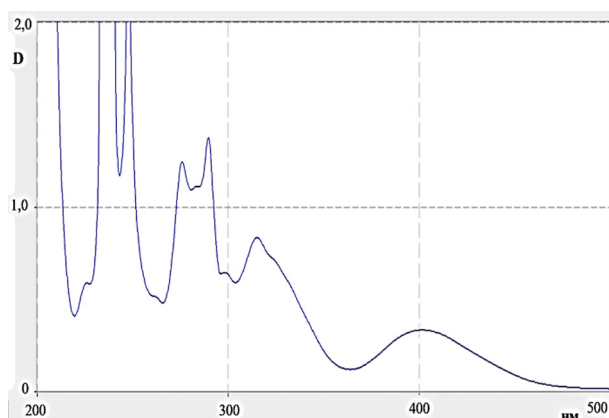


Рисунок 4 – Дифференциальный спектр раствора водно-спиртового извлечения из почек дуба черешчатого

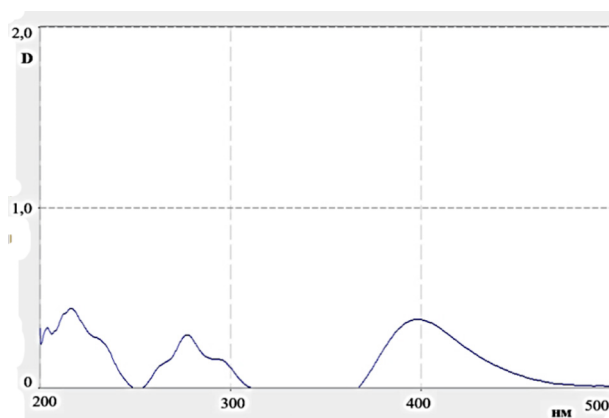


Рисунок 5 – Дифференциальный спектр раствора стандартного образца цинарозида

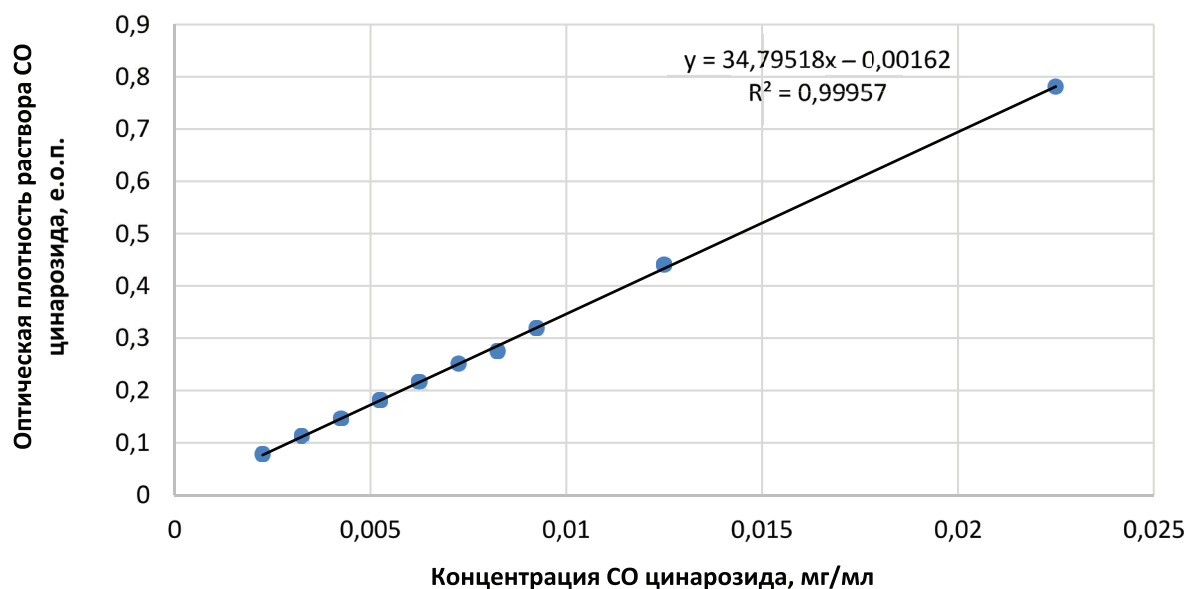


Рисунок 6 – Зависимость значений оптической плотности растворов цинарозида с алюминия хлоридом от концентрации цинарозида (дифференциальный вариант)

Таблица 1 – Оптимальные показатели экстрагирования суммы флавоноидов из почек дуба черешчатого при длине волны 400 нм

| № п/п | Экстрагент         | Соотношение «сырье: экстрагент» | Время экстракции, мин | Степень измельчения, мм | Значение оптической плотности, D | Содержание суммы флавоноидов в пересчете на цинарозид и абсолютно сухое сырье, % |
|-------|--------------------|---------------------------------|-----------------------|-------------------------|----------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|
| 1     | спирт этиловый 40% | 1:30                            | 60 мин                | 2                       | 0,3918                           | 0,23±0,012                                                                       |
| 2     | спирт этиловый 50% | 1:30                            | 60 мин                | 2                       | 0,4116                           | 0,24±0,012                                                                       |
| 3     | спирт этиловый 60% | 1:30                            | 60 мин                | 2                       | 0,4417                           | 0,24±0,012                                                                       |
| 4     | спирт этиловый 70% | 1:30                            | 60 мин                | 2                       | 0,4705                           | 0,25±0,013                                                                       |
| 5     | спирт этиловый 80% | 1:30                            | 60 мин                | 2                       | 0,4866                           | 0,24±0,012                                                                       |
| 6     | спирт этиловый 90% | 1:30                            | 60 мин                | 2                       | 0,4771                           | 0,22±0,011                                                                       |
| 7     | спирт этиловый 96% | 1:30                            | 60 мин                | 2                       | 0,4725                           | 0,23±0,012                                                                       |
| 8     | спирт этиловый 70% | 1:30                            | 30 мин                | 2                       | 0,4845                           | 0,20±0,01                                                                        |
| 9     | спирт этиловый 70% | 1:30                            | 45 мин                | 2                       | 0,5236                           | 0,21±0,01                                                                        |
| 10    | спирт этиловый 70% | 1:30                            | 60 мин                | 2                       | 0,4742                           | 0,23±0,012                                                                       |

| № п/п | Экстрагент         | Соотношение «сырье: экстрагент» | Время экстракции, мин | Степень измельчения, мм | Значение оптической плотности, D | Содержание суммы флавоноидов в пересчете на цинарозид и абсолютно сухое сырье, % |
|-------|--------------------|---------------------------------|-----------------------|-------------------------|----------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|
| 11    | спирт этиловый 70% | 1:30                            | 90 мин                | 2                       | 0,383                            | 0,23±0,012                                                                       |
| 12    | спирт этиловый 70% | 1:30                            | 120 мин               | 2                       | 0,3883                           | 0,26±0,013                                                                       |
| 13    | спирт этиловый 70% | 1:30                            | 150 мин               | 2                       | 0,388                            | 0,25±0,013                                                                       |
| 14    | спирт этиловый 70% | 1:20                            | 120 мин               | 2                       | 0,3169                           | 0,14±0,01                                                                        |
| 15    | спирт этиловый 70% | 1:30                            | 120 мин               | 2                       | 0,6121                           | 0,16±0,01                                                                        |
| 16    | спирт этиловый 70% | 1:50                            | 120 мин               | 2                       | 0,4399                           | 0,27±0,012                                                                       |
| 17    | спирт этиловый 70% | 1:100                           | 120 мин               | 2                       | 0,6121                           | 0,26±0,013                                                                       |
| 18    | спирт этиловый 70% | 1:50                            | 120 мин               | 1                       | 0,5843                           | 0,23±0,012                                                                       |
| 19    | спирт этиловый 70% | 1:50                            | 120 мин               | 2                       | 0,6649                           | 0,27±0,013                                                                       |
| 20    | спирт этиловый 70% | 1:50                            | 120 мин               | 3                       | 0,6063                           | 0,23±0,011                                                                       |

Таблица 2 – Исходные данные для оценки линейности методики

| № п/п | Концентрация раствора стандартного образца цинарозида, мг/мл | Значение оптической плотности, е.о.п. (среднее значение из трех последовательных измерений) |
|-------|--------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1     | 0,00225                                                      | 0,078411                                                                                    |
| 2     | 0,00325                                                      | 0,112547                                                                                    |
| 3     | 0,00425                                                      | 0,146935                                                                                    |
| 4     | 0,00525                                                      | 0,181541                                                                                    |
| 5     | 0,00625                                                      | 0,216048                                                                                    |
| 6     | 0,00725                                                      | 0,250947                                                                                    |
| 7     | 0,00825                                                      | 0,275401                                                                                    |
| 8     | 0,00925                                                      | 0,318974                                                                                    |
| 9     | 0,0125                                                       | 0,440864                                                                                    |
| 10    | 0,0225                                                       | 0,780564                                                                                    |

Таблица 3 – Результаты оценки прецизионности методики количественного определения суммы флавоноидов в почках дуба черешчатого (уровень повторяемости)

| Метрологические характеристики | f | $\bar{X}$ , % | $S^2$      | SD       | RSD   | P, % | t (табл.) | $\Delta\bar{X}$ , % | $\bar{\epsilon}$ , % |
|--------------------------------|---|---------------|------------|----------|-------|------|-----------|---------------------|----------------------|
| Значения                       | 9 | 0,24          | 0,00011738 | 0,011738 | 4,81% | 95   | 2,262     | ±0,01               | ±3,44                |

Таблица 4 – Валидационная оценка внутрилабораторной прецизионности методики определения суммы флавоноидов в почках дуба черешчатого

| Аналитик 1 | Аналитик 2 | Метрологические характеристики              |                                             |
|------------|------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------|
| X, %       | X, %       | Аналитик 1                                  | Аналитик 2                                  |
| 0,24       | 0,26       | $\bar{X} = 0,24$                            | $\bar{X} = 0,25$                            |
| 0,24       | 0,25       | $S^2 = 0,000057$                            | $S^2 = 0,000080$                            |
| 0,23       | 0,26       | $SD = 0,00753$                              | $SD = 0,00894$                              |
| 0,25       | 0,24       | $RSD = 3,16\%$                              | $RSD = 3,58\%$                              |
| 0,23       | 0,24       | $\bar{\epsilon} = 3,63\%$                   | $\bar{\epsilon} = 4,11\%$                   |
| 0,24       | 0,25       | $\bar{X} \pm \Delta\bar{X} = 0,24 \pm 0,01$ | $\bar{X} \pm \Delta\bar{X} = 0,25 \pm 0,01$ |

Примечание:  $t_{\text{выч}} = 2,44 < t(95\%; 10)$ ;  $F_{\text{выч}} = 1,19 < F(95\%; 5; 5)$  – различия между полученными результатами случайны

Таблица 5 – Схема приготовления водно-спиртовых извлечений почек дуба черешчатого с добавками растворов стандартного образца цинарозида

| Исходное содержание цинарозида, мг/мл водно-спиртового извлечения | Добавка цинарозида, мг/мл | Суммарное расчетное содержание цинарозида, мг/мл | Уровень концентрации относительно номинального, % |
|-------------------------------------------------------------------|---------------------------|--------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| 2,30                                                              | 1,84                      | 4,14                                             | 80                                                |
| 2,30                                                              | 2,30                      | 4,60                                             | 100                                               |
| 2,30                                                              | 2,76                      | 5,06                                             | 120                                               |



**Таблица 6 – Результаты оценки правильности методики количественного определения суммы флавоноидов в почках дуба черешчатого**

| Внесено цинарозида, мг/мл | Найдено, мг/мл | Открываемость, % | Характеристики, рассчитанные для величины открываемости, % |
|---------------------------|----------------|------------------|------------------------------------------------------------|
| 0,84                      | 0,80           | 95,24            | $\bar{X} = 100,30\%$<br>$SD = 2,76\%$<br>$RSD = 2,75\%$    |
| 0,84                      | 0,86           | 102,38           |                                                            |
| 0,84                      | 0,83           | 98,81            |                                                            |
| 2,30                      | 2,32           | 100,87           |                                                            |
| 2,30                      | 2,26           | 98,26            |                                                            |
| 2,30                      | 2,38           | 103,48           |                                                            |
| 2,76                      | 2,81           | 101,81           |                                                            |
| 2,76                      | 2,72           | 98,55            |                                                            |
| 2,76                      | 2,85           | 103,26           |                                                            |

**Таблица 7 – Содержание суммы флавоноидов в образцах почек дуба черешчатого (в %) в пересчете на цинарозид**

| № п/п | Характеристика образца сырья                                        | Содержание суммы флавоноидов в абсолютно сухом сырье (в %) в пересчете на цинарозид |
|-------|---------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| 1     | Самарская область, Похвистневский р-н, с. Первомайск (март 2021 г.) | 0,27±0,01                                                                           |
| 2     | Ботанический сад Самарского университета, г. Самара (март 2021 г.)  | 0,44±0,02                                                                           |
| 3     | Природный лесопарк «Дубки», г. Самара (март 2021 г.)                | 0,35±0,02                                                                           |

Для оценки внутрилабораторной прецизионности анализ испытуемого образца проводился другим аналитиком в другие дни с использованием того же оборудования (табл. 4). Для каждого образца проводились исследования в количестве шести повторностей. Из таблицы 4 видно, что расчетное значение F-критерия Фишера 1,19 меньше табличной величины 5,05. Следовательно, дисперсии результатов анализа обоих химиков статистически эквивалентны и различия между полученными значениями являются случайными. Таким образом, разработанная методика соответствует требованиям валидации по показателю внутрилабораторная прецизионность.

Правильность методики определяли методом добавок. Растворы цинарозида с известной концентрацией (80%, 100% и 120%) добавляли к аликвоте испытуемого образца. При этом средний процент открываемости составил  $100,30 \pm 2,12\%$  (табл. 5 и 6). Для каждой концентрации проводили по три определения. Погрешность, определяемая для проб с добавками стандартных образцов, находилась в пределах погрешности единичного определения, что свидетельствует об отсутствии систематической погрешности. Величина среднего процента открываемости эксперимента  $100,30 \pm 2,12\%$  укладывается в нормируемый диапазон значений и находится в пределах  $100 \pm 5\%$  (табл. 5 и 6).

Полученные результаты свидетельствуют об удовлетворительной прецизионности предлагаемой методики количественного определения суммы флавоноидов в почках дуба черешчатого в пересчете на цинарозид на уровнях повторяемости и внутрилабораторной прецизионности.

Установлено, что среднее содержание флавоноидов в исследуемом образце сырья составило  $0,24 \pm 0,01\%$  (относительная погрешность определения составила  $\pm 3,60\%$ ).

Таким образом, исходя из результатов валидационной оценки результатов эксперимента, можно сделать вывод о пригодности использования данной методики для количественной оценки суммы флавоноидов в пересчете на цинарозид.

С использованием этой методики было проанализировано три образца почек дуба черешчатого, заготовленных в одно и то же время – май-июнь 2021 года (табл. 7). Определено, что содержание суммы флавоноидов в анализируемых образцах варьирует от  $0,27 \pm 0,01$  до  $0,44 \pm 0,02$  в зависимости от места произрастания (табл. 7).

Наличие в почках дуба черешчатого флавоноида цинарозида позволяет позиционировать их в качестве лекарственного растительного сырья, лекарственные препараты на основе которых могут назначаться при заболеваниях хронического гломерулонефрита и пиелонефрита, осложненных почечной недостаточностью с гиперазотемией [25]. Показаниями для назначения цинарозида могут служить гипертоническая болезнь, вазоренальная гипертензия, осложненная нефросклерозом и хронической почечной недостаточностью, поскольку флавоноид цинарозид в индивидуальном виде оказывает вышеперечисленные фармакологические эффекты [25]. Ранее проведенные исследования по изучению антимикробной активности позволяют рекомендовать почки дуба в качестве сырья для создания антимикробных препаратов [24].

Полученные результаты коррелируются с данными, полученными для почек других видов растительных объектов, если учитывать тот факт, что пересчет определяемой суммы флавоноидов для почек разных видов ведется на разные вещества (содержание суммы флавоноидов в почках каштана конского обыкновенного в пересчете на рамноцитрин на варьирует от 1,24% до 2,31%; содержание суммы флавоноидов в почках тополя бальзамического в пересчете на ди-гидрокверцетин от 7,5 до 11,1%) [13–15].

Таким образом, полученные в ходе эксперимента данные позволяют сделать вывод о целесообразности использования метода дифференциальной спектрофотометрии для количественного определения суммы флавоноидов в почках дуба черешчатого. Данные результаты позволяют рекомендовать в качестве нижнего предела содержание суммы флавоноидов для данного вида сырья не менее 0,25%.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате проведенного исследования была разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в почках дуба черешчатого методом дифференциальной спектрофотометрии с использованием стандартного образца цинарозида при аналитической длине волны 400 нм. Определено содержание суммы флавоноидов для почек дуба черешчатого, которое варьирует от 0,27%±0,01 до 0,44%±0,02. Погрешность единичного определения с доверительной вероятностью 95% со-

ставляет ±3,6%. Установлены оптимальные значения экстракции суммы флавоноидов почек дуба черешчатого. В качестве нижнего предела содержание суммы флавоноидов для почек дуба черешчатого можно рекомендовать не менее 0,25%.

проведена валидационная оценка разработанной методики по показателям специфичность, линейность, прецизионность (уровень повторяемости), внутрилабораторная прецизионность, правильность в соответствии с ГФ РФ XIV издания. Исходя из результатов валидационной оценки результатов эксперимента, можно говорить о пригодности использования данной методики для количественной оценки суммы флавоноидов в пересчете на цинарозид.

Данным исследованием положено начало изучению химического состава почек дуба, количественной оценки содержащихся в них суммы БАВ методом дифференциальной спектрофотометрии. Результаты исследования могут быть использованы при создании лекарственных растительных препаратов на основе почек дуба черешчатого, применяемых при лечении заболеваний почек и дерматологических заболеваний за счет содержания в сырье суммы биологически активных веществ и отдельно вещества цинарозида.

Полученные результаты способствуют разработке нормативной документации на перспективный вид сырья «Дуба черешчатого почки» для внедрения в Государственную фармакопею Российской Федерации.

### ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данное исследование не имело какой-либо финансовой поддержки от сторонних организаций.

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### АВТОРСКИЙ ВКЛАД

Н.А. Рябов – сбор данных, проведение эксперимента, анализ и интерпретация полученных данных, подготовка черновика рукописи, анализ литературы, написание рукописи; В.М. Рыжов – планирование исследования, участие в разработке концепции и дизайна исследования, сбор растительного материала для анализа; В.А. Куркин – окончательное утверждение для публикации рукописи, обработка полученных результатов, проверка критически важного интеллектуального содержания, статистическая обработка полученных результатов.

### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Маевский П.Ф. Флора средней полосы европейской части России. 11-е изд. – М.: Товарищество научных изданий КМК. – 2014. – 635 с.
2. Grotewold E. The Science of Flavonoids. New York: Springer. – 2006. – Vol. 35. DOI: 10.1007/978-0-387-28822-2.
3. Cushnie T.P., Lamb A.J. Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids // Int. J. Antimicrob. Agents. – 2011. – P. 38:99–107. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2011.02.014.
4. Magnus S., Gazdik F., Anjum N.A., Kadlecova E., Lackova Z., Cernei N., Brtnicky M., Kynicky J., Klejdus B., Necas T., Zitka O. Assessment of Antioxidants in Selected Plant Rootstocks // Antioxidants (Basel). – 2020. – Vol. 9, No. 3. – Art. No. 209. DOI: 10.3390/antiox9030209.
5. Dureshahwar K., Mubashir M., Upaganlwar A.B., Sangshetti J., Upasani C., Une H. Quantitative assessment of tactile allodynia and protective effects of flavonoids of *Ficus carica* Lam. leaves in diabetic neuropathy // Pharmacognosy Magazine. – 2019. – Vol. 15, Issue 62. – P. 128–134. DOI: 10.4103/pm.pm\_553\_18.
6. Макарова Н.В., Игнатова Д.Ф., Еремеева Н.Б. Влияние технологии экстрагирования на содержание фенолов, флавоноидов и уровень антиоксидантной активности для плодов шиповника (*Rosa* L.), коры дуба (*Quercus robur* L.), корня ревеня (*Rheum officinale*), корня женьшеня (*Panax* L.), почек березы (*Betula* L.) // Химия растительного сырья. – 2020. – № 3. – С. 271–278. DOI: 10.14258/jcprm.2020036608.
7. Eaton E., Caudullo G., Oliveira S., de Rigo D. *Quercus robur*

- and *Quercus petraea* in Europe: distribution, habitat, usage and threats. European Atlas of Forest Tree Species. Publi.: Public Office of the European Union, Luxembourg. – 2016. – С. 162–163.
8. Буданцев А.Л., Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Том. 1. Семейства *Actinidiaceae-Malvaceae*, *Euphorbiaceae-Haloragaceae*. / отв. ред. А.В. Буданцев. СПб.; М., Товарищество научных изданий КМК, 2009. – 158 с.
  9. Okuda T. Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. *Phytochemistry*. – 2005. – Vol. 66. – P. 2012–2031.
  10. Elansary O.H., Szopa A., Kubica P., Ekiert H., Mattar A.M., Al-Yafrasi M.A., et al. Polyphenol Profile and Pharmaceutical Potential of *Quercus* spp. Bark Extracts // *Plants*. – 2019. – Vol. 8, No.11. – Art. No.486. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants8110486>.
  11. Milton Prabu S. Quercetin: a flavonol with universal therapeutic use and its interactions with other drugs. *Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements*. – 2019. – Vol. 106. – P. 256–271. DOI: 10.1016 / B978-0-12-812491-8.00010-2.
  12. Pérez A.J., Pecio Ł., Kowalczyk M., Kontek R., Gajek G., Stopinsek L., Mirt I., Oleszek W., Stochmal A. Triterpenoid Components from Oak Heartwood (*Quercus robur*) and Their Potential Health Benefits // *J Agric Food Chem*. – 2017. – Vol. 65, No.23. – P. 4611–4623. DOI: 10.1021/acs.jafc.7b01396.
  13. Nassima B., Behidj-Benyounes N., Ksouri R. Antimicrobial and antibiofilm activities of phenolic compounds extracted from *Populus nigra* and *Populus alba* buds (Algeria) // *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2019. – Vol. 55. DOI: 10.1590/s2175-97902019000218114.
  14. Куркин В.А., Павел П.В., Рыжов В.М. Количественное определение суммы флавоноидов в почках каштана конского обыкновенного // *Химики-фармацевтический журнал*. – 2019. – Т. 53, №2. – С. 47–51. DOI: 10.30906/0023-1134-2019-53-2-47-51.
  15. Куркин В.А., Белов П.В., Рыжов В.М., Браславский В.Б. Определение содержания рамноцитрина в почках каштана конского обыкновенного методом ВЭЖХ // *Химики-фармацевтический журнал*. – 2019. – Т. 53, №12. – С. 21–25. DOI: 10.30906/0023-1134-2019-53-12-21-25.
  16. Куркина А.В., Савельева А.Е., Куркин В.А. Количественное определение суммы флавоноидов в цветках бархатцев отклоненных // *Химики-фармацевтический журнал*. – 2021. – Т. 55, №2. – С. 46–50. DOI: 10.30906/0023-1134-2021-55-2-46-50.
  17. Lysiuk R., Hudz N. Differential Spectrophotometry: Application for Quantification of Flavonoids in Herbal Drugs and Nutraceuticals Editorial // *International Journal of Trends in Food and Nutrition*. – 2017. – Vol. 1. – Art. No. 102.
  18. Адехенов С.М., Байсаров Г.М., Хабаров И.А., Поляков В.В. Флавоноиды почек тополя бальзамического *Populus balsamifera* L. и способы их выделения // *Химия растительного сырья*. – 2020. – Т. 2. – С. 181–188. DOI: 10.14258/jcprm.2020027602.
  19. Bunaciu A.A., Vu Dang H., Hassan Y. Aboul-Enein. Applications of Differential Spectrophotometry in Analytical Chemistry // *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. – 2013. – Vol. 43, No.3. – P. 25–130. DOI: 10.1080/10408347.2013.803357.
  20. Бубенчиков Р.А., Гончаров Н.Н. Разработка и валидация методики количественного определения флавоноидов в траве кульбабы осенней (*Leontodon autumnalis* L.) // *Фармация и фармакология*. – 2016. – Т. 4, №1(14). – С. 26–35. DOI: 10.19163/2307-9266-2016-4-1(14)-26-35.
  21. Бубенчикова В.Н., Старчак Ю.А. Изучение фенольных соединений тимьяна мелового (*Thymus cretaceus* Klok. et Schost.) // *Scientific Bulletin of Belgorod State University*. – 2011. – Vol. 16/2, No.22. – P. 203–206.
  22. Зименкина Н.И., Куркин В.А. Разработка подходов к стандартизации листьев ореха грецкого // *Фармация*. – 2020. – Т. 69, №7. – С. 23–28. DOI: 10.29296/25419218-2020-07-04.
  23. Рябов Н.А., Рыжов В.М., Тарасенко Л.В., Сохина А.А. Анатомо-морфологическое исследование почек дуба черешчатого *Quercus robur* L. Фармацевтическая ботаника: современность и перспективы: Сб. мат. конф. ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава России; Изд-во Самарский государственный медицинский университет, 2017. – С. 149–158.
  24. Рябов Н.А., Куркин В.А., Рыжов В.М., Лямин А.В., Жестков А.В., Сохина А.А. Определение антимикробной активности спиртовых извлечений коры и почек дуба черешчатого // *Аспирантский Вестник Поволжья*. – 2020. – №1–2. – С. 152–157. DOI: 10.17816/2072-2354.2020.20.1.152-157.
  25. Халилов Р.М., Адилов З.Х., Юсупова С.М., Сулейманова З.Р., Маматханов А.У., Турахожаев М.Т., Котенко Л.Д., Сыров В.Н. Технология получения очищенной суммы флавоноидов из корней *Pseudosophora alopecuroides* и оценка ее гепатопротекторной и желчсекреторной активности // *Химики-фармацевтический журнал*. – 2005. – Т. 39, №2. – С. 25–27. DOI: 10.30906/0023-1134-2005-39-2-25-27.

## АВТОРЫ

**Рябов Николай Анатольевич** – аспирант кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-1332-953X. E-mail: [ryabov.nikolay.2014@mail.ru](mailto:ryabov.nikolay.2014@mail.ru)

**Рыжов Виталий Михайлович** – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России; заведующий отделом координации и мониторинга научно-исследователь-

ской работы, г. Самара ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-8399-9328. E-mail: [lavr\\_rvm@mail.ru](mailto:lavr_rvm@mail.ru)

**Куркин Владимир Александрович** – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-7513-9352. E-mail: [v.a.kurkin@samsmu.ru](mailto:v.a.kurkin@samsmu.ru)